

DirectAce qPCR Mix plus ROX Tube

I. 製品説明

DirectAce qPCR Mix plus ROX Tube は、蛍光標識プローブアッセイ用のリアルタイム PCR 用試薬です。2×濃度に予め調製されたマスターミックスが小分け分注済みです。ROX による補正を必要とする装置にも対応可能なように 50 × ROX Passive Reference が添付されています。

本製品は、株式会社島津製作所の Ampdirect®^{*1}をベースに、専用のホットスタート PCR 酵素を組合せて最適化したもので、PCR 阻害物質の影響を抑制することにより、様々な生体試料から DNA を精製することなく蛍光標識プローブアッセイを行うことが可能です。

本製品は、農林水産省委託事業「新農業展開ゲノムプロジェクト」(GMO 評価・管理)GAM-211 のもと、国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所、株式会社 島津製作所、株式会社 ニッポンジーンが開発を行いました。

* 1) Ampdirect®は、株式会社島津製作所の商標です。

II. 保存

−20°C (遮光)

4°C保存(遮光)の場合は1 ヶ月以内にご使用下さい。

長期保存する場合は−20°C (遮光)で保存して下さい。

50 × ROX Passive Reference は光によって劣化する恐れがありますので、遮光して保管してください。

III. 製品内容

試薬	200 反応用
2 × DirectAce qPCR Mix No ROX ^{*2}	1.25 ml × 4 本
50 × ROX Passive Reference ^{*3}	0.2 ml × 1 本

* 2) Hot-Start DNA Polymerase, Ampdirect® Buffer, dNTP Mixture, Mg²⁺, stabilizer を含んでいます。

* 3) Life Technologies 社製リアルタイム PCR 装置など、ウエル間の蛍光シグナルの補正を行う装置で解析する場合に使用します。

IV. 注意

- ・ 使用時は、泡立えないように穏やかに転倒混和し、試薬を十分均一にしてからご使用ください。
- ・ 本品は、蛍光標識プローブとして MGB(Minor Groove Binder)構造を有する TaqMan® ^{*4}MGB プローブのご使用には適しておりません。
- ・ Uracil-N-Glycosylase によるキャリアオーバー処理は出来ません。

* 4) TaqMan®は、Roche Molecular Systems 社の商標です。

V. 使用例

<前処理>

生体試料約 5 g に 20 ml の組織溶解液^{*5}を加えてフードミル等で破砕する。20 分間常温で静置後、上清を蒸留水で 2 倍以上に希釈して Template DNA とする。

* 5) 組織溶解液: 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 5 mM EDTA, 400 mM NaCl, 0.3% SDS

<反応液(例)>

	[50 µl 系]	[25 µl 系]
2 × DirectAce qPCR Mix No ROX	25.0 µl	12.5 µl
25 µM Primer Forward	1.0 µl	0.5 µl
25 µM Primer Reverse	1.0 µl	0.5 µl
10 µM TaqMan® Probe	1.0 µl	0.5 µl
Template DNA	5.0 µl	2.5 µl
50 × ROX Passive Reference ^{*6}		

d.d.H₂O up to 50.0 µl 25.0 µl

* 6) ROX 補正を必要としない装置の場合、添加する必要はありません。ROX 補正を必要とする ABI PRISM® 7000/7700/7900HT, 7300 Real-time PCR System, ABI GeneAmp® 5700 には終濃度 1 × になるように添加してください。ABI Prism® SDS 7500, Stratagene Mx3000P / 3005 / 4000 には終濃度 0.1 × になるように添加してください。

<PCR サイクル>

95°C	10 min) 45 cycles
95°C	15 sec	
60 ~ 65°C	60 sec	

Primer 及び Probe のデザインや Template 等により反応の至適条件が変わることがあります。

<参考文献>

Mano, J.; Hatano, S.; Futo, S.; Minegishi, Y.; Ninomiya, K.; Nakamura, K.; Kondo, K.; Teshima, R.; Takabatake, R.; Kitta, K.; Development of direct real-time PCR system applicable to a wide range of foods and agricultural products.; *Food Hyg. Saf. Sci.* 2014, 55, 25-33.

本製品は、試薬(試験研究用)として販売しているものです。
医薬品の用途には使用しないでください。